UNIVERSITÉ DE STRASBOURG.

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1937-1938. *N° 203.*

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ATTAQUE DES GLUCIDES PAR LA LEVURE

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le novembre 1938

à la

Faculté de Pharmacie de Strasbourg

pour obtenir le grade de **Docteur de l'Université**

(Mention Pharmacie)

PAR

M^LLE HÉLÈNE LEROUX

PHARMACIEN,

LICENCIÉE ÈS-SCIENCES.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE { MM. LAPP, Professeur, *Président.* A. SARTORY, Professeur. CORDIER, Professeur. } *Juges.*

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME

1938

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548006_0068

Contribution à l'étude

de

l'attaque des glucides par la levure

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG.

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1937-1938. *N° 203.*

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ATTAQUE DES GLUCIDES PAR LA LEVURE

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le novembre 1938

à la

Faculté de Pharmacie de Strasbourg

pour obtenir le grade de **Docteur de l'Université**

(Mention Pharmacie)

PAR

M^LLE HÉLÈNE LEROUX

PHARMACIEN,

LICENCIÉE ÈS-SCIENCES.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE { MM. LAPP, Professeur, *Président.* / A. SARTORY, Professeur. / CORDIER, Professeur. } *Juges.*

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME

1938

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ✻, I Q, C ⚘
VOLMAR, *Assesseur*, I. Q
PIPERAUD, *Secrétaire*, I Q, ⚘, ⚘

R.UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O ✻, I Q, ⚘

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ✻, I. Q, O. ⚘	Bactériologie.
	LAVIALLE, ✻, I. Q, ⚘	Botanique.
	VOLMAR, I. Q	Chimie organique.
	GUILLAUME, ✻, ⚘, I. Q, ⚘	Pharmacie galénique.
	LAPP, I. Q	Chimie analytique.
	CORDIER, Q	Pharmacie chimique.
	R. SARTORY, Q	Matière médicale.

PROFESSEUR HONORAIRE

M. JADIN, O ✻, Q I, ⚘

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	A. SARTORY	Hygiène.
	LAVIALLE	Hydrologie.
	VOLMAR	Chimie minérale.
	GUILLAUME	Zoologie.
	LAPP	Physique.
	EISENMANN	Législation et Déontologie.
	CORDIER	Chimie biologique.
	R. SARTORY	Cryptogamie.
	DUQUENOIS	Toxicologie.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	COLLARD, I. Q, ⚘	Chimie pharmaceutique.
	BOHN, A. Q	Histoire naturelle.
	DUQUENOIS	Chimie et Physique.
	N	Bactériologie et Parasitologie.

A Monsieur Raymond GUILLEMET

docteur ès-sciences physiques,
chef de travaux a la faculté de médecine,

dans le laboratoire duquel ce travail a été effectué.

Hommage de très vive reconnaissance
et de sincère attachement.

Au Président du jury de notre thèse,

Monsieur le Professeur Ch. LAPP

professeur de chimie analytique et de toxicologie,

que nous remercions très vivement de sa bienveillance
et de ses précieux conseils.

Hommage de profonde gratitude.

AVANT-PROPOS.

Les recherches du présent travail ont été poursuivies à l'Institut de Chimie biologique de la Faculté de Médecine de Strasbourg, que dirige M. le Professeur Maurice Nicloux, Correspondant de l'Institut, Membre associé de l'Académie de Médecine. Nous prions M. le Professeur Nicloux de trouver ici l'expression de nos très respectueux remerciements pour les services que nous ont rendus ses méthodes analytiques, l'intérêt qu'il nous a sans cesse témoigné et les encouragements que nous avons trouvés auprès de lui.

Nous ne nous sentons pas moins obligée à l'égard de nos anciens Maîtres de la Faculté de Pharmacie, notamment M. le Doyen A. Sartory et MM. les Professeurs Lapp et Cordier qui ont bien voulu faire partie du jury de notre Thèse.

Et nous nous garderons d'oublier les enseignements reçus de nos Maîtres de la Faculté des Sciences MM. les Professeurs Terroine, Bounoure et Bonnet, auprès desquels nous avons toujours trouvé l'accueil le plus bienveillant et les conseils les plus précieux.

Enfin il nous est agréable de remercier nos compagnons de travail et tous ceux qui nous ont aidée à l'Institut de Chimie biologique, en particulier M. le Professeur agrégé L. Thivolle qui, en nous montrant les détails de ses techniques de dosage du phosphore, nous a grandement facilité notre travail.

INTRODUCTION.

L'attaque des glucides conduisant à la formation d'alcool et de gaz carbonique, est un phénomène connu depuis fort longtemps. Mais le fait expérimental observé depuis la plus haute antiquité, à savoir la fermentation des jus sucrés, n'a commencé à recevoir d'explication qu'au siècle dernier. DESMAZIÈRES le premier, constate la présence d'un microorganisme dans les milieux en fermentation, mais c'est PASTEUR qui établira d'une façon indiscutable la nécessité des cellules de levure pour la transformation du sucre. En l'absence d'air, la levure puise l'énergie nécessaire pour son activité vitale dans un déplacement intramoléculaire d'oxygène, ainsi que l'avait prévu PASTEUR ; il en résulte une scission de l'ose aboutissant à un dégagement de gaz carbonique et à la formation d'alcool. Les travaux des frères BUCHNER, entrepris à la suite de ces découvertes, montrèrent que ce n'est pas la levure en tant qu'organisme vivant qui conditionne la fermentation alcoolique, mais le fait qu'elle contient une diastase, la zymase, qu'on a pu isoler et préparer à l'état pur.

La cause de la fermentation alcoolique étant déterminée, connaissant d'autre part les termes ultimes de cette fermentation, les recherches des trente dernières années ont eu pour but la détermination des composés intermédiaires de la dégradation du sucre, permettant de comprendre comment se forment le gaz carbonique et l'alcool. Il n'existe d'ailleurs pas encore actuellement un schéma reconnu par tous. La conception « unitaire » qu'exposait récemment SCHOEN [1] traduit des faits généralement admis ces dernières années. Par la phosphorylisation le glucide se met sous forme d'hexosesphos-

phates attaquables par la levure ; puis les ruptures des molécules formées le mettent successivement sous forme de méthylglyoxal, d'acide pyruvique, enfin d'aldéhyde acétique. Un phénomène d'oxydo-réduction jouant sur ce dernier terme fait apparaître l'alcool, alors que le gaz carbonique s'est formé lors de la décarboxylation de l'acide pyruvique. Mais il est des auteurs qui ne croient pas, à la suite des travaux de MEYERHOF et de son école, au passage par le stade méthylglyoxal ; pour eux les esters phosphoriques conduisent immédiatement à l'acide pyruvique.

Le mécanisme même de la fermentation alcoolique n'est donc pas fixé d'une manière définitive ; de nombreuses recherches se poursuivent à ce sujet. D'ailleurs, à côté de ces travaux d'ordre théorique, la curiosité des chercheurs s'est attaquée à des problèmes qui, malgré leur aspect plutôt expérimental et pratique, montrent sous un jour nouveau des données classiques dont on ignorait jusqu'ici la complexité ; il ne serait pas étonnant que ces dernières études, poursuivies méthodiquement, complètent un jour par des résultats directs les efforts de ceux qui abordent par d'ingénieux détours la question passionnante de la dégradation des sucres par la levure.

C'est ainsi que GUILLEMET [2], étudiant la fermentation alcoolique panaire, a été conduit à s'occuper du rendement en alcool et gaz carbonique. Théoriquement, à 100 mg. de glucose correspondent 49 mg. de gaz carbonique et 51 mg. d'alcool, soit un rapport gaz carbonique/alcool égal à 0,96. Or, pratiquement, ces 51 p. 100 en alcool ne sont jamais obtenus ; on ne parvient qu'à 40 ou 42 mg. d'alcool à partir de 100 mg. de sucre (1). Il semble que 80 à 85 p. 100 seulement de sucre mis à fermenter se transforment en alcool et gaz carbonique. Tenant compte des 5 p. 100 environ de sucre disparu qui se retrouvent dans le milieu sous forme de glycérine et

(1) NICLOUX et GRABAR avaient déjà indiqué quelques résultats à ce sujet. Voir *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **115**, 1280.

de différents acides gras dont le plus important est l'acide succinique, Guillemet se demande quel est le sort des 10 à 15 p. 100 de glucide qu'on ne retrouve plus dans les termes ultimes de la fermentation, et dont la disparition ne permet pas d'obtenir un bilan complet.

D'autre part, ce n'est plus le saccharose uniquement, ou le glucose, que l'on fait fermenter ; on s'adresse à des glucides plus complexes dont la dégradation de la molécule pourrait être riche en enseignements. Il ressort de ces études que certains d'entre eux présentent des formes singulières de fermentation, ainsi que Genevois [3], passant en revue les travaux de divers auteurs, le mettait tout récemment en évidence. Le maltose, par exemple, conduit à un rendement en alcool encore moindre que celui obtenu avec le glucose. Ce peu d'aptitude à fermenter va en s'accroissant quand on passe du maltose à d'autres sucres, certains fructoholosides par exemple. On a été ainsi amené à rechercher s'il ne serait pas possible, soit d'accélérer, soit même de déclencher dans certains cas la fermentation de ces holosides à poids moléculaire élevé. Von Euler, le premier, indiqua l'effet activateur sur la fermentation du glucose d'une eau de macération de levure, effet qui serait dû à un facteur dénommé « Z », dont on connaît un certain nombre de caractéristiques, mais qui n'a pu être isolé. Tout récemment des auteurs américains admettaient dans la levure et les farines, l'existence d'une substance apparemment différente du facteur Z, qu'ils appelaient facteur « M », adjuvant de la fermentation du maltose et qui en améliorerait le rendement. Enfin on vient de montrer que la vitamine B_1 est un activateur de la fermentation des sucres.

Certains de ces points particuliers ont fait l'objet de notre travail. C'est en partant de ces constatations expérimentales que nous avons été amenée à étudier le bilan de la fermentation, son accélération, et à examiner la fermentation directe de l'inuline.

CHAPITRE I.

Essai de bilan de la fermentation.

C'est la constatation faite dans un très grand nombre d'essais par GUILLEMET [2] qui a été le point de départ de nos expériences : du saccharose, du glucose et du maltose, mis à fermenter en solution aqueuse à 1 p. 100 ne sont retrouvés sous forme d'alcool et de gaz carbonique que dans la proportion de 80 p. 100 environ, alors que d'après les données classiques, pour une durée de fermentation suffisamment longue, le glucose se transforme en alcool et gaz carbonique dans la proportion de 95 p. 100, le reste étant constitué par 3 à 4 p. 100 de glycérine, de l'acide succinique, etc... ; nous avons d'ailleurs retrouvé des quantités de glycérine du même ordre.

Pour rechercher ce que deviennent les 15 p. 100 de sucre dissimulé, nous avons fait successivement des essais de bilan partiel et des essais de bilan carboné total. Sans être arrivée à déterminer exactement la nature chimique des corps qui se forment, nous avons cependant vérifié l'hypothèse émise par GUILLEMET : ce sucre se trouve sous forme de produits secondaires ou intermédiaires de la fermentation alcoolique. L'étude de la levure elle-même, poursuivie ensuite, a confirmé cette hypothèse. Enfin une investigation identique faite dans le cas du maltose n'a fait qu'accentuer les conclusions ci-dessus.

A. — Bilan partiel dans le cas du glucose.

1° *Mode opératoire.*

Solution de sucre. — Pour plus de commodité, nos essais ont porté sur des solutions aqueuses de glucose de concentration allant jusqu'à 5 et 10 p. 100. Nous avons employé du glucose pur « Poulenc ».

Suspension de levure. — Nous avons toujours utilisé la levure Fala de Strasbourg, telle qu'elle est livrée dans le commerce. Nous l'avons lavée à l'eau distillée, deux fois, par centrifugation. Un poids donné de levure ainsi lavée est mis en suspension dans la moitié de son poids d'eau distillée. Cette suspension une fois homogénéisée est telle que 0,5 cm^3, mesurés à l'aide d'une pipette à écoulement total soigneusement rincée ensuite, correspondent environ à 100 mg. de levure sèche.

Ballons de fermentation. — Ce sont des ballons en verre Pyrex de 100 ou 300 cm^3 suivant la quantité de sucre mise en œuvre. Leur col, d'une dizaine de centimètres de long, est muni d'un appendice où la levure est mesurée. Ils sont fermés par des bouchons de caoutchouc percés d'un trou, laissant passer un tube effilé muni d'un robinet qui permet de faire le vide à l'intérieur du ballon.

Le *vide* est réalisé en quelques minutes au moyen d'une pompe électrique.

Mise en train et arrêt de la fermentation. — La solution de sucre et la levure sont mélangées une fois le vide fait, au moment de placer le ballon à fermentation dans une étuve à 32° C, munie d'un système d'agitation continue.

Après fermentation, le ballon est placé une demi-heure environ à 0°, pour ne pas risquer une évaporation d'alcool quand on le débouche.

La séparation du liquide et de la levure s'opère par centrifugation. Le liquide, décanté par siphonage au

moyen d'une micropissette, est conservé au froid pour les dosages de sucre restant et de glycérine, la distillation de l'alcool se faisant immédiatement pour éviter des pertes. La levure est lavée deux fois à l'eau distillée, par centrifugation, puis transvasée dans un vase taré. Elle est desséchée d'abord à l'étuve à 60° C., puis dans le vide sulfurique jusqu'à poids constant.

2° *Technique des dosages.*

Dosage de l'alcool. — Il a été fait selon la méthode de Nicloux [4]. Nous avons distillé la solution fermentée dans un appareil de Schloesing-Aubin, en recueillant un quart à un tiers du distillat. Nous nous sommes toujours arrangée pour doser de 3 à 5 mg. d'alcool.

La réduction sulfo-chromique dans les conditions du dosage de l'alcool selon Nicloux, a été utilisée pour la détermination des substances réductrices totales du liquide de fermentation. Nous avons évalué dans les mêmes conditions la réduction donnée par la glycérine et les sucres.

Dosage de la glycérine. — Nous l'avons réalisé par la méthode de Zeisel, adaptée à la microanalyse par Pregl [5] et modifiée par Guillemet, avec l'appareil indiqué par ce dernier [6]. Le liquide à analyser est évaporé dans le ballon où se fera l'attaque ; on n'en laisse subsister qu'une goutte pour ne pas trop diluer l'acide iodhydrique employé (d = 1,7) et permettre un dégagement quantitatif de l'iodure d'isopropyle. Les complexes qui apparaissent avec l'iodure d'argent sont détruits par un séjour de plusieurs heures au bain-marie bouillant. Le précipité ainsi purifié est ensuite filtré, séché et pesé à la microbalance suivant les indications de Pregl.

Dosage du sucre restant. — Les dosages de glucose et de maltose ont été faits, soit par la méthode iodométrique de Dumazert [7], après étalonnage des liqueurs em-

ployées avec des solutions pures de glucose et de maltose, soit par molybdomanganimétrie suivant Fontès et Thivolle [8]. Les quantités de sucre dosées étaient comprises entre 0,5 et 5 mg.

3° *Résultats obtenus* (1).

Nous avons trouvé comme quantités d'alcool et de glycérine celles indiquées par les auteurs qui se sont occupés de cette question.

Pour une concentration donnée en sucre, la quantité d'alcool obtenue est sensiblement constante. Elle ne semble pas dépendre de la dose de levure employée, puisque pour des quantités de levure variant du simple au décuple la production d'alcool est sensiblement la même. Voici d'ailleurs quelques chiffres se rapportant à la fermentation complète de 1 g. de glucose :

Suspension de levure (cm^3).....	0,5	1,0	2,0	5,0
Alcool trouvé (mg.)	437,5	411,0	426,5	441,0

La quantité d'alcool recueillie est un peu supérieure à celle obtenue par Guillemet dans des solutions sucrées à 1 p. 100, elle augmente d'ailleurs légèrement pour des concentrations de sucre passant de 5 p. 100 à 10 p. 100, ainsi que le montrent les résultats ci-dessous :

Solutions à 5 p. 100 (1 g. glucose dans 20 cm^3) alcool obtenu (mg.).....	421,5	424,5	414,5
Solutions à 10 p. 100 (2 g. glucose dans 20 cm^3) alcool obtenu (mg.).....	874,0	867,0	»
soit pour 1 g. de glucose (mg).....	437,0	433,5	»

Les dosages de glycérine nous ont donné des quantités du même ordre que celles trouvées par les anciens auteurs.

(1) R. Guillemet et Mlle H. Leroux. — Sur le bilan de la fermentation du glucose par la levure. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, **125**, 903.

	Quantité de glycérine	
	totale (mg.)	p. 100 de sucre disparu
Solution sucrée à 5 p. 100	42,34	4,23
	36,6	3,66
Solution sucrée à 10 p. 100	76	3,8
	95	4,75

A l'aide de ces résultats nous avons pu dresser un bilan partiel de la fermentation du glucose. En voici quelques exemples :

	glucose : 2 g.		glucose : 1 g	
Quantité de levure (mg. de substance sèche)	142,7	285,4	88,75	195,25
Durée de fermentation (heures).	48	48	62	61
Alcool (mg.)	874	867	421	411
Gaz carbonique correspondant à l'alcool (mg.).....	836	829	404,5	394,9
Glycérine (mg).....	95	76	36,6	42,34
Augmentation du poids du résidu sec de la levure (mg.) ...	26,5	53,1	2,25	4,0
Glucose résiduel (mg.)..... ...	12,0	9,0	17,4	25,6
Total (mg).	1843,5	1834,1	881,75	877,84

Ces bilans, même en tenant compte des acides gras qui se forment, montrent tous une disparition de 10 à 15 p. 100 du sucre mis à fermenter, sans contre-partie dans les produits finaux identifiés. Pour confirmer l'existence de cette perte, nous avons procédé à l'estimation des matières réductrices totales des liquides fermentés : une par-

tie aliquote de ces liquides est traitée par le bichromate en présence d'acide sulfurique, de la même manière qu'une solution alcoolique dans la technique de Nicloux ; nous obtenons ainsi la somme des matières réductrices exprimées en alcool. Si de cette somme on retranche l'alcool, on obtient ce qu'on peut appeler, par analogie avec ce qu'ont fait Polonovski [9] et ses élèves, l'indice sulfo-chromique résiduel.

Si maintenant, par des essais sur les substances pures, on évalue la réduction sulfo-chromique due à la glycérine présente (dosée par micro-Zeisel) et aux sucres résiduels (dosés par les techniques indiquées), on s'aperçoit que l'indice sulfo-chromique résiduel est supérieur à celui dû à la somme glycérine + sucre.

Nous déterminerons plus loin l'évolution du poids de la substance sèche de la levure à différents stades de la fermentation. Disons tout de suite que moins la levure a augmenté de poids, plus l'indice sulfo-chromique résiduel est élevé.

L'indice sulfo-chromique résiduel augmente d'ailleurs en cours de fermentation avec la dose de levure employée ; voici un ordre de grandeur de cette augmentation : de 10 dans le cas de 0,5 cm^3 de suspension de levure, il passe à 16 pour 5 cm^3 de suspension de levure.

Il y a donc dans ce milieu des substances oxydables par le bichromate, dont on ne connaît pas la nature. D'ailleurs la réduction sulfo-chromique faite sur différentes fractions de la distillation, montre que dans presque toutes les fractions du distillat, il passe des substances oxydables par le bichromate en milieu sulfurique, il en existe aussi de fixes qui ne sont ni de la glycérine, ni du sucre restant ; sur la nature de ces substances on ne peut faire que des hypothèses.

Nous avons recherché si des corps aldéhydiques ne pourraient exister dans le milieu : aucune combinaison bisulfitique appréciable n'a pu être réalisée. Il existe cependant des traces de substances oxydables par l'iode en

milieu fortement alcalin ; leur quantité augmente après une oxydation sulfo-chromique ménagée : elles proviennent vraisemblablement d'alcools secondaires.

Faisant suite à ces bilans partiels, nous avons tenté de dresser un bilan carboné précis de la fermentation. Nos essais ont malheureusement échoué pour les raisons que nous allons exposer.

B. — Les difficultés du bilan carboné complet.

Pour doser le carbone dans les liquides fermentés et dans la levure, nous nous sommes tout d'abord adressée au microdosage du carbone par voie humide selon Nicloux [10]. On sait que le principe de ce dosage est le suivant : l'oxydation chromique de la substance carbonée produit de l'acide carbonique qui est absorbé, grâce au vide, à l'étage supérieur de l'appareil par de la potasse décarbonatée. L'oxydation est précédée d'une évaporation qui chasse toute l'eau du milieu et permet une oxydation complète du produit à analyser. C'est ce premier stade du dosage qui ne nous a pas permis d'utiliser cette méthode élégante et simple : l'eau vaporisée entraîne avec elle les produits volatils du milieu et ceci dans une proportion qui est loin d'être constante. On ne peut donc songer à trouver par ce procédé tout le carbone des liquides fermentés.

Nous avons essayé alors d'appliquer le micro-Liebig selon Pregl [5]. Cette méthode micro-analytique ne s'adresse qu'aux corps solides ou à quelques milligrammes d'une substance liquide. Nous avions pensé l'adapter aisément au dosage du carbone dans nos liquides de fermentation en absorbant l'eau : pour cela la quantité à analyser, 0,1 cm^3, était introduite dans un tube ouvert aux deux extrémités, contenant du sulfate de sodium anhydre. Ce petit tube était placé dans le tube à combustion de l'appareil de Pregl, dont la longueur avait été plus que doublée pour permettre une combustion totale.

Le tube d'absorption du gaz carbonique formé était précédé de deux tubes à chlorure de calcium pour l'absorption de l'eau dégagée en grande quantité. La marche générale du dosage était la même que pour le microdosage habituel, à la durée près. Nous pensions ainsi avoir résolu la difficulté et pouvoir déterminer exactement les quantités de carbone présentes dans la levure et dans le liquide de fermentation ou son distillat. L'expérience nous a montré que ce n'était pas possible. D'ailleurs les résultats des dosages du carbone dans un volume connu d'une solution diluée d'alcool pur ont toujours été inférieurs de 40 p. 100 environ aux résultats théoriques. Cette perte provient sans doute d'une combustion incomplète des vapeurs carbonées, par suite de la présence d'une grande quantité de vapeur d'eau qui dilue trop l'oxygène amené. On ne peut d'autre part se débarrasser de l'excès d'eau sans risquer des pertes en substances carbonées volatiles.

A la suite de ces recherches et dosages sur le liquide de fermentation, nous avons examiné l'évolution de la levure.

C. — Etude de l'évolution de la levure.

Les variations de poids du résidu sec de la levure ont donné lieu à des constatations intéressantes.

Nous avons étudié ces variations en fonction de la durée de la fermentation. Dans la fermentation d'une solution sucrée à 5 p. 100, pour la même dose initiale de levure (202 mg. comptés en substance sèche), à la même concentration, voici un exemple des résultats obtenus dans le cas du glucose :

Durées de fermentation	3 heures	6 heures	20 heures	3 jours	6 jours
Poids du résidu sec (mg.)...	229	251,5	235,5	193,5	185,7
Différence (mg.)...	+ 27	+ 49,5	+ 33,5	— 8,5	— 16,3

Le poids du résidu sec de la levure commence donc par augmenter ; cet accroissement atteint son maximum au bout de 6 heures de fermentation, alors que cette dernière vient juste de se terminer. A partir de ce moment, on constate une diminution de poids ; l'augmentation devient même négative si on laisse la fermentation continuer quelques jours : au bout d'un temps suffisamment long la levure qui a fermenté, a perdu du poids. Ce phénomène existe quelle que soit la quantité de levure mise à fermenter ; il est cependant plus rapide avec de fortes doses de levure, ainsi que les résultats ci-après permettent de le constater :

Durée de fermentation (heures)	62			71	
Poids initial de la levure (mg.)	88,75	195,25	395,5	93	928
Variation du poids (en p. 100).	+ 2,5	+2,04	— 1,8	+ 8,6	— 2,2

Ces différences proviennent sans doute ici du fait qu'une dose plus forte de levure conduit à une vitesse plus grande de la fermentation et le stade où la levure perd du poids est plus rapidement atteint avec une grande quantité de levure qu'avec une quantité plus faible. Pour une même quantité de levure, on constate de légères différences quant à son accroissement de poids pour des durées identiques de fermentation ; cela provient vraisemblablement de l'état antérieur des cellules et des réserves qu'elles possèdent au moment de leur mise en fermentation.

Rappelons que nous avons comparé la réduction sulfochromique du résidu du distillat avec les variations de poids de la levure. Il semble qu'il y ait balancement entre ces produits fixes réducteurs et la variation du poids de la levure : moins la levure augmente de poids, plus ces substances réductrices fixes sont abondantes.

Ces variations de poids de la levure sont-elles dues à une variation de la levure elle-même ou, comme nous le croyons plutôt, à une migration des produits de la fermentation alcoolique ? Au début le sucre diffuse à l'intérieur des cellules, il y subit les transformations dues à la fermentation ; le gaz carbonique produit se dégage tandis que les produits intermédiaires et l'alcool passent à nouveau dans le liquide en fermentation. S'il en est ainsi la levure elle-même ne doit guère varier d'état ; pour en être certain, nous avons compté le nombre des cellules (1) au cours de la fermentation et nous avons dosé l'azote (par Microkjeldhal) dans le liquide. Le nombre des cellules ne nous a jamais paru avoir augmenté ; après 2 ou 3 heures de fermentation, nous avons trouvé le même nombre de cellules qu'au début ; au bout de 20 heures leur nombre a diminué de 3,3 p. 100. En fin de fermentation, on trouve dans le milieu de l'azote dissous, en quantité très petite : 0,1 mg. ; cet azote dissous (il représente 0,75 p. 100 de celui de la levure) est cependant bien inférieur à celui correspondant au nombre de cellules de levure disparues : l'azote des cellules disparues est repris par les survivantes, fait connu depuis Pasteur (2).

La levure a son nombre de cellules diminué et perd très légèrement de l'azote pour une durée de fermentation pour laquelle le poids de la substance sèche est augmenté. Cet accroissement de poids ne peut donc provenir que d'une accumulation momentanée du glucide à l'intérieur de la cellule de levure où il subit très vraisemblablement la phosphorylisation nécessaire à sa dégradation ultérieure et sans doute aussi une partie des ruptures moléculaires dont l'ensemble aboutit aux produits finaux de la fermentation alcoolique. Mais après un certain temps de fermentation, la diminution du poids du résidu sec de la levure n'étant même pas justifiée par la

(1) Nous décrivons sommairement au Chapitre III la technique employée pour cette numération des cellules.

(2) Il pourrait s'agir aussi pour les longues durées d'une conjugaison de cellules, comme nous le faisons remarquer plus loin.

très faible quantité d'azote dissous, il ne saurait être question de considérer le déficit glucidique signalé précédemment comme emmagasiné dans les cellules de levure ; les substances qui le représentent sont dissoutes dans le liquide même de la fermentation.

D. — Le cas singulier du maltose.

Guillemet [2], passant en revue les sucres fermentescibles de la farine, signale les différences entre la fermentation du maltose et celles du saccharose et du glucose : vitesse de fermentation diminuée, rapport gaz carbonique/alcool variable, rendement en alcool moins fort.

Nous avons fait fermenter du maltose pour voir si nous retrouverions les phénomènes rapportés plus haut dans le cas du glucose, mais à une échelle plus grande qui nous permettrait de mieux les saisir.

Nous avons tout d'abord vérifié cette diminution dans la vitesse de la fermentation ; elle est très nette :

	Glucose (1 g.)		Maltose (1 g.)	
Durée de fermentation	2 h. 50 m.	6 h.	2 h. 50 m.	5 h. 45 m.
Sucre restant (mg.)	370	20,8	750	350

Nous avons étudié ensuite les variations de poids du résidu sec de la levure dans le cas du maltose. L'accroissement maximum est obtenu pour une durée de fermentation de 20 heures, alors que pour le glucose 6 heures ont suffi ; cette augmentation est alors sensiblement la même pour maltose et glucose : 46,5 mg. dans le premier cas, 49,5 dans le second. La variation de poids de la levure suit donc, ici encore, la marche de la fermentation comme nous l'avons indiqué à propos du glucose.

La réduction sulfo-chromique totale a également été faite dans le cas du maltose. Les produits oxydables par

le bichromate sont plus importants par rapport à la quantité d'alcool formé, pour le maltose que pour le glucose. Il en est de même de l'indice sulfo-chromique résiduel ; voici quelques chiffres à ce sujet :

	Glucose (1 g.)		Maltose (1 g.)	
Réduction sulfo-chromique totale (exprimée en mg d'alcool)	387	491	215	285
Alcool formé (mg.)	226,5	391	77,5	119,0
Réduction sulfo-chromique du résidu non alcoolique	160,5	108	137,5	166,0

Les produits réducteurs fixes sont bien plus abondants au cours d'une fermentation de maltose que dans une fermentation de glucose.

Nous avons examiné le rapport alcool formé/sucre disparu. Théoriquement égal à 51 p. 100, nous l'avons trouvé dans le cas du glucose égal environ à 42-43 p. 100. Quand il s'agit de maltose, ce rapport est plus faible au début de la fermentation. Après 2 heures, il est de 31 p. 100 ; il augmente au fur et à mesure que progresse la dégradation du sucre pour atteindre en fin de fermentation des valeurs sensiblement égales à celles obtenues dans le cas du glucose. Ceci pour des solutions sucrées à 5 p. 100, en présence d'une quantité de levure égale au cinquième du poids du sucre mis à fermenter.

Le maltose fermente donc plus difficilement que le glucose ; il est d'autres glucides dont la dégradation pour donner de l'alcool et du gaz carbonique, est encore plus pénible, certains même sont pratiquement non fermentescibles. Il vient naturellement à l'idée de rechercher s'il ne serait pas possible soit d'accélérer, soit même de déclencher leur fermentation.

Nous allons indiquer les travaux déjà faits à ce sujet, puis les expériences que nous avons exécutées nous-même.

CHAPITRE II.

L'accélération de la fermentation.

A. — Le facteur « Z », le facteur « M » et la vitamine B_1.

Dès 1919, Von Euler [11] a montré qu'un extrait de levure, ajouté à un sucre (saccharose, glucose) en accélère la vitesse de fermentation. En 1924 [11], il reprend ses recherches, dans le but de différencier la cozymase de Neuberg de certains activateurs de croissance (Bios de Wildiers, Facteur D de Funck, Vitamine B) ; il est amené à montrer qu'une macération de levure renferme un facteur, qu'il nomme « Z », capable d'accroître dans une très grande mesure la vitesse de production du gaz carbonique dans une fermentation. Dans des travaux ultérieurs [11], avec ses collaborateurs, il étudie les propriétés de ce facteur Z. Il le distingue dès l'abord de la cozymase : cette dernière est détruite par une ébullition prolongée, alors que l'eau de levure, portée 2 heures à 100°C, conserve toutes ses propriétés accélératrices. Autre différence essentielle : la cozymase ne manifeste un effet activateur de fermentation que sur une vieille levure ; l'eau de levure, au contraire, n'agit que sur une fermentation par la levure fraîche, dont elle triple la vitesse de formation du gaz carbonique. Cet effet n'est pas dû à une augmentation du nombre des cellules de levure qui reste constant ; il n'est pas dû non plus à la présence d'amino-acides ou d'hexosesphosphates, ni à un chan-

gement d'acidité du milieu. Le facteur Z n'a pu être isolé ; on en connaît pourtant certaines propriétés : il est dialysable, soluble dans l'alcool fort, non précipitable par la baryte, etc...

Borchardt et Pringsheim [12] en ont préparé une solution concentrée : ils éliminent par l'éther les matières grasses et d'autres substances de la macération initiale ; puis le facteur Z est extrait par l'alcool absolu, ce dernier est chassé ensuite par un courant de vapeur d'eau. Ces auteurs obtiennent finalement une solution trouble de facteur Z que l'on peut concentrer à volonté. Ils en donnent certaines caractéristiques : elle est réductrice, présente la réaction de Molish pour les sucres et celle de Schiff pour les aldéhydes ; mais les réactions des protides sont négatives, ainsi que celles des phénols.

Toutes ces recherches ont été faites sur des eaux de macération de levure de bière. Brisou et Genevois [13] ont fait, de leur côté, une étude des levures de vin. Ils ont constaté que ces levures permettent de préparer un extrait présentant un « effet Z » de même intensité que celui donné par les moûts de bière. De même les milieux de fermentation en aérobiose possèdent l'effet Z. Le jus de raisin frais se comporte d'une façon analogue à celle de l'eau de levure ; il n'en est pas ainsi du jus de raisin fermenté qui n'active aucunement une fermentation, ni des vins qui ne présentent qu'un très faible effet Z.

Guillemet [2] a fait une étude détaillée, à propos de la fermentation alcoolique panaire, des vitesses respectives de fermentation du saccharose et du maltose par les levures hautes pressées industrielles utilisées actuellement en France ; on sait en effet depuis longtemps que ces levures font toutes, à des degrés divers, fermenter le maltose plus lentement que le saccharose aux concentrations de l'ordre de celles qui existent dans la pâte boulangère, soit de 1 à 2 p. 100. Lorsque, en 1933, Genevois et Pavloff [14] mirent en évidence que la vitesse de fermentation du maltose augmente considérablement

sous l'action de l'eau de levure, ils attribuèrent cette action au facteur Z hypothétique de Euler et Schwartz. Blish et Sandstedt [15] ont signalé en 1934 l'existence d'un facteur catalysant la fermentation du maltose, qu'on trouve, à des degrés divers, dans la farine et dans la levure. Ils ont montré qu'une farine débarrassée de sucre, dont l'amylase avait été détruite par l'action de l'acide chlorhydrique à froid pendant 1 heure, lavée ensuite longuement à l'eau et à l'alcool, était capable de catalyser la fermentation du maltose. En 1935, Genevois et Pavloff [16] ainsi que plusieurs autres auteurs : Guillemet [17], Geoffroy [18], constataient à leur tour ce pouvoir accélérateur des pâtes de farine de blé sur la fermentation du maltose ; Guillemet [2] préparait des extraits de farine, lesquels, après fermentation préalable des glucides qui y étaient contenus, présentaient un pouvoir accélérateur sur la fermentation du maltose du même ordre que les extraits de levure.

Blish et Sandstedt [19] supposaient en 1937 dans les farines de blé un facteur de fermentation spécifique du maltose, qu'ils dénommaient facteur « M ». Ils ont recherché ce facteur dans diverses farines et ils ont pu montrer des différences au point de vue de la fermentation du maltose, entre des blés de provenances variées ; ces auteurs établissent une distinction très nette entre le facteur Z et le facteur M.

Tout récemment enfin, des auteurs américains [20] mettaient en évidence l'effet accélérateur de la vitamine B_1 (*thiamine*) — et même du produit pyrimidique servant à l'obtenir synthétiquement — sur la fermentation du glucose, du saccharose et du maltose. Bien que dans ce dernier travail cette accélération ne soit proposée que comme test d'essai de la vitamine B_1, on peut penser que le « thiochrome » de la levure dont la molécule est très voisine de celle de la vitamine B_1, n'est peut-être pas étranger aux effets « Z » et « M » enregistrés par les auteurs. Cette question se rattache d'ailleurs à celle, encore

discutable, de savoir dans quelle mesure l'acte fermentaire est lié à la vie intime de la cellule de levure ou aux diastases sécrétées par les réactions intracellulaires. A côté de ce problème se pose celui de la parenté des diastases et des vitamines, mais nous n'avons pas la prétention de pouvoir aborder de pareilles discussions dans le cadre de notre sujet.

B. — Quelques essais personnels de catalyse de la fermentation du maltose.

En dehors de l'effet accélérateur constaté dans ces milieux d'eau de levure, d'eau de farine ou de moût fermenté, et sans préjuger de la nature chimique du facteur Z ou du facteur M, et de leur parenté avec la vitamine B_1 et le thiochrome, il nous a semblé intéressant d'examiner quel pouvait être l'effet accélérateur de produits qui semblent être définitivement admis comme substances intermédiaires de la dégradation des sucres.

Cette préoccupation n'est d'ailleurs pas nouvelle et divers auteurs ont essayé il y a longtemps [**21**, **22**, **23**, **24**] de voir quel pouvait être l'effet des aldéhydes, de l'acide pyruvique ou des pyruvates alcalins, etc..., sur la vitesse de la fermentation alcoolique par des jus de macération de levure, en particulier des jus préparés en vue de l'obtention de la zymase.

Nos essais ont été effectués au contraire seulement avec de la levure vivante (Levure Fala) ; nos résultats sont d'ailleurs les mêmes dans leurs grandes lignes que ceux observés autrefois.

Nous avons tout d'abord constaté que l'*acide pyruvique,* même à faible dose, non seulement n'accélère pas la fermentation du maltose, mais, joue bien plutôt le rôle d'inhibiteur ; il réduit au 1/4 de sa valeur la quantité de gaz carbonique obtenue pendant les 3 premières heures d'une fermentation de maltose avec la levure Fala. L'addition d'aldéhyde acétique à l'acide pyruvique ne change pas ces résultats.

Tout différents sont les résultats obtenus avec l'*aldéhyde éthylique* utilisée seule, ou ajoutée à une préparation d'eau de levure. Voici, schématiquement exposés, les résultats des essais épars que nous avons eu l'occasion de faire à ce sujet et qui mériteraient d'être repris d'une manière systématique.

1° L'aldéhyde éthylique (1), ajoutée en quantité convenable, triple la vitesse de fermentation du maltose avec la levure Fala, alors qu'elle n'augmente en rien celle du glucose avec la même levure. Ce résultat est du même ordre que l'accélération maximum provoquée par l'eau de levure Fala.

2° Des traces d'aldéhyde, ajoutées à l'eau de levure ou à des fractions de distillation d'eau de levure d'activité médiocre, leur restituent, au moins partiellement, leur pouvoir accélérateur sur la fermentation du maltose.

3° Comme pour l'eau de levure, l'accélération observée est essentiellement liée dans le cas de l'aldéhyde à la quantité ajoutée dans le milieu. De trop fortes doses ont une action inhibitrice très nette. La quantité optimum pour la fermentation de 100 mg. de maltose en solution à 1 p. 100 semble voisine de 25 mg.

4° Les résultats obtenus dans les essais ci-dessus varient beaucoup en intensité suivant l'aptitude plus ou moins grande de la levure utilisée à faire fermenter le maltose.

Quoiqu'il en soit, la manière dont a été préparée l'eau de levure semble jouer beaucoup moins sur son activité accélératrice que la quantité qu'on ajoute dans un milieu de fermentation, l'optimum de cette quantité dépendant justement de la technique de préparation.

Il ne s'agit en aucun cas d'une multiplication quelconque des cellules de levure. Cette multiplication n'existe pas davantage en présence d'eau de levure qu'en solution aqueuse pure d'un glucide fermentescible. A la longue, au contraire, c'est à une diminution du nombre des cel-

(1) Pure « Poulenc », reçue en ampoule scellée.

lules que l'on assiste ; mais il est moins facile ici, dans ce milieu concentré en azote et toujours un peu hétérogène, de déterminer exactement quelle fraction de l'azote provenant des cellules éclatées repasse dans les survivantes, comme nous l'avons fait dans le chapitre I (1).

On peut évidemment rapporter à des facteurs Z ou M hypothétiques, à la vitamine B_1 ou au thiochrome, les résultats observés dans l'accélération de la fermentation : les effets en plus ou en moins tenant à la quantité de ces facteurs présente dans le milieu. Mais on peut tout aussi bien, avec tout autant de vraisemblance, parler de milieux complexes et de tout un ensemble de substances dont certaines n'existent qu'à l'état de traces et réglant, par leur présence et leurs proportions respectives, la vitesse de l'attaque du maltose, l'inhibition ne résultant que d'un déséquilibre entre ces substances. En résumé, nous croyons que les appellations de « Facteur Z » ou de « Facteur M », auxquelles viendront éventuellement s'ajouter quelques autres, ne couvrent peut-être que l'aptitude d'un milieu fort complexe à déclencher et à entretenir l'attaque d'un glucide par telle levure donnée ; pour tout dire d'un milieu contenant en germe les diverses substances auxiliaires, intermédiaires ou accessoires dont on admet la présence ou la formation au cours des processus complexes englobés dans l'expression « fermentation alcoolique » (2).

Les expériences que nous allons décrire maintenant semblent bien étayer cette manière de voir en montrant sous un aspect nouveau la fermentation alcoolique directe d'un glucide à poids moléculaire élevé : l'inuline.

(1) Il pourrait s'agir aussi d'une conjugaison de cellules ; nous n'avons fait aucune recherche à ce point de vue.

(2) Les résultats obtenus par Brisou et Genevois [**13**] sont dans leurs grandes lignes en accord avec cette manière de voir.

CHAPITRE III.

La fermentation directe de l'inuline

Il existe donc des facteurs « déclencheurs » ou accélérateurs de la fermentation alcoolique de certains glucides. Leur emploi nous a permis de faire fermenter un glucide réputé jusque là infermentescible en solution pure, sans hydrolyse préalable, par la plupart des levures : l'Inuline. Nous avons choisi l'inuline en raison de sa présence en quantité notable dans une plante banale : le topinambour, et de l'intérêt que pourrait présenter aujourd'hui, à divers points de vue, sa transformation commode en alcool.

Cette fermentation a d'ailleurs fait l'objet d'essais pratiques, en ensemençant directement de levure (*Saccharomyces anamensis, Saccharomyces cerevisiæ, Schizosaccharomyces pombe*) des jus de diffusion de topinambour [25], mais un commencement d'hydrolyse du fructoholoside par l'inulase ne semble pas exclu ici ; les rendements en alcool sont de 50 à 80 p. 100 du rendement théorique. Nous verrons plus loin que les rendements que nous avons enregistrés au laboratoire avec de l'inuline pure et un milieu d'origine toute différente se rapprochent des précédents.

Avant de passer en revue nos essais et leurs résultats, nous allons rappeler quelques expériences de fermentation sur d'autres fructoholosides, réalisées par Guillemet [26] il y a quelques années.

Fermentation catalysée de fructoholosides (1)

Le raffinose, le gentianose et le stachyose, au contact de la levure seule, ont le fructose de leur molécule fermenté, le gentianose semblant toutefois subir une attaque un peu plus profonde ; quant à la lévosine, une toute petite fraction de sa molécule se dégrade, très lentement d'ailleurs.

Tout autre est le phénomène constaté après addition à leur solution aqueuse de quelques centimètres cubes d'une eau de macération de levure : en présence de la même dose de levure que précédemment, le raffinose fermente à peu près totalement ; les trois autres glucides ont une partie seulement de leur molécule dégradée en gaz carbonique et alcool, mais cette partie est plus importante et plus rapidement attaquée qu'en l'absence d'eau de levure.

Nous allons voir que la fermentation « catalysée » de l'inuline tout en se rapprochant de celle de ces fructoholosides, s'en distingue sur plusieurs points.

Fermentation de l'inuline en présence d'eau de levure.

A. — Mode opératoire et technique des dosages employés.

L'*inuline* utilisée est un produit R.A.L. (Kuhlmann). Elle se dissout aisément à chaud et reste en solution à la température ordinaire (elle ne précipite qu'en refroidissant fortement la solution). Nous en avons déterminé l'humidité : 500 mg. d'inuline contiennent 40 mg. d'eau et correspondent par conséquent à 460 mg. de produit sec.

La *suspension de levure* est la même que celle indiquée pour la fermentation du glucose. Répétons qu'il s'agit uniquement de la levure Fala (Strasbourg).

(1) Ces expériences ont été faites, pour la plupart, en mesurant seulement le gaz carbonique dégagé.

L'eau de levure est préparée de la façon suivante : 100 g. de levure fraîche Fala sont mis en suspension dans 200 cm^3 d'eau distillée additionnée de 1 cm^3 de toluène. On laisse la macération s'effectuer pendant 24 heures (20 heures et 26 heures dans différentes préparations) à 40°C, en agitant de temps en temps ; puis le tout est porté à 85°C environ, pendant 3 heures. Le liquide est filtré à plusieurs reprises de façon à obtenir une liqueur limpide ; on peut aussi le centrifuger, ce qui permet d'aboutir plus rapidement au résultat cherché. Cette eau de levure est conservée à + 2° C. ; il y a lieu de la filtrer de temps en temps pour ne l'utiliser qu'absolument limpide.

Dosage de l'inuline. — L'inuline n'est pas réductrice et ne peut être titrée directement par les méthodes habituelles de dosage des sucres. Son hydrolyse conduit à des glucides réducteurs que l'on dose aisément par la méthode de molybdomanganimétrique de Fontès et Thivolle [8]. Une partie aliquote de la solution fermentée est hydrolysée par HCl n/1 à l'ébullition pendant 1/4 d'heure, ou à 80°C pendant 2 heures. Après neutralisation par le carbonate de potassium en présence de rouge de méthyle, on complète à un volume connu et dose les sucres de la manière habituelle en rapportant les résultats à ceux obtenus à l'aide d'une solution d'inuline de concentration connue.

Dosage de l'alcool par la méthode de Nicloux [4].

Dosage de la glycérine par la technique indiquée au chapitre I.

Dosage du gaz carbonique. — Il est extrait des ballons de fermentation au moyen de la pompe de Gréhant ; la lecture des volumes gazeux se fait dans des cloches graduées, sur la cuve à mercure, en absorbant le gaz carbonique par des pastilles de potasse.

Toutes nos expériences de fermentation ont été faites en milieu toluéné ; le dispositif expérimental et le mode opératoire ont été déjà décrits au chapitre I.

B. — Résultats obtenus (1).

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

1° *Inuline en présence de levure seule.*

Quand on essaye de faire fermenter l'inuline en présence de levure seule, on ne constate aucune formation appréciable d'alcool et de gaz carbonique, ainsi que les chiffres suivants vont le montrer :

Fermentation de 460 mg. d'inuline, 0,5 cm³ de suspension de levure, volume total : 20 cm³, à 32° C, dans le vide.

Durée (heures)	45	67	144
Gaz carbonique dégagé (mg.)	2,83	3,91	4,96
Alcool formé (mg.)			6,4
Inuline restante (mg.)	438,4	391	287,5
Rapport gaz carbonique/sucre disparu (multiplié p. 100)	13,1	5,6	2,7
Rapport alcool/sucre disparu (multiplié p. 100)			3,7

Il faut attendre 30 à 40 heures pour obtenir un dégagement appréciable de gaz carbonique, lequel d'ailleurs ne s'accentue guère par la suite : il ne double même pas dans les cent heures suivantes. La quantité d'alcool apparu est sensiblement équivalente, aux erreurs d'expérience près, à celle correspondant au gaz carbonique dégagé.

Par contre, si la disparition de l'inuline commence lentement, elle continue à un rythme plus rapide que celui de l'apparition du gaz carbonique. Dans ces conditions le rapport gaz carbonique formé/sucre disparu

(1) R. Guillemet et Mlle H. Leroux. — La fermentation de l'inuline par la levure sans hydrolyse préalable. Déductions théoriques. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **127**, 1307.

baisse continuellement : au bout de 6 jours il n'est plus que 2,7 p. 100, c'est-à-dire absolument insignifiant. *A ce moment 180 mg. d'inuline ne se retrouvent plus dans le milieu alors que la quantité de gaz carbonique formé ne correspond qu'à 11 mg. environ d'inuline fermentée.* Ceci est un exemple typique de disparition de sucre sans apparition concomitante d'alcool et de gaz carbonique.

Nous avons alors pensé à accélérer la formation des produits finaux au moyen d'une eau de macération de levure, ainsi que cela avait été fait pour les fructoholosides.

2° *Inuline en présence de levure et d'eau de levure.*

Nous avons préparé une solution d'inuline de même concentration que dans nos essais précédents (460 mg. dans 20 cm³) en remplaçant 5 cm³ d'eau distillée par 5 cm³ d'eau de levure. Après addition de la levure, le tout est placé, dans le vide, à 32°C. Nous avons mesuré les quantités de gaz carbonique et d'alcool formées.

Dégagement de gaz carbonique. — A.) Nous avons tout d'abord mesuré la quantité de gaz carbonique dégagé en fonction du temps ; voici les premiers résultats obtenus:

1) *460 mg d'inuline, 1 cm³ suspension de levure, 5 cm³ eau de levure, volume total : 20 cm³, à 32°C., dans le vide.*

Durée (heures).... ..	16	29	62	88	94
Poids du gaz carbonique obtenu (mg.)...	5,52	11,45	89,85	103,08	114,61

2) *460 mg. d'inuline, 0,5 cm³ suspension de levure, 5 cm³ d'eau de levure, volume total : 20 cm³, à 32°C., dans le vide.*

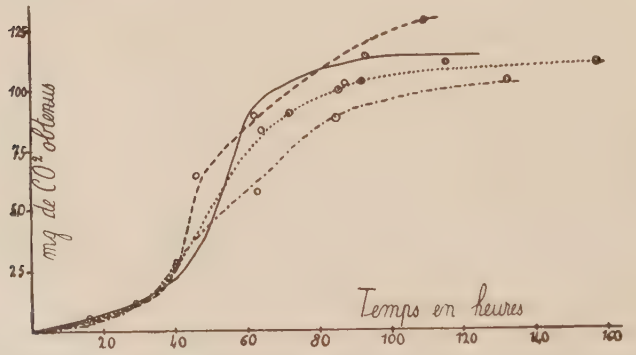
Durée (heures)	16	40	46	64	110
Poids du gaz carbonique obtenu (mg.)...	3,62	27	63,8	83,5	129

Ces mesures ont été faites sur des fermentations lancées d'une manière identique, arrêtées à des moments différents. Nous avons de plus suivi le dégagement du gaz carbonique sur une seule fermentation, en l'extrayant à différents intervalles de temps ; nous avons recueilli les quantités de gaz carbonique ci-dessous :

460 mg. d'inuline, 1 cm³ suspension de levure, 5 cm³ eau de levure, volume total : 20 cm³, à 32° C., dans le vide.

1) Durée (heures).....	15	40	63	85	133
Poids gaz carbonique (mg.).....	2,56	27,70	57,08	88,92	103,76
2) Durée (heures).....	72	86	93	158	
Poids gaz carbonique (mg.).....	90,71	99,78	103,52	111,60	

Nous avons alors établi les courbes représentant le dégagement de gaz carbonique en fonction du temps. Dans la figure ci-dessous, nous avons réuni quatre de ces courbes correspondant chacune à un essai de fermentation.



Courbes représentant le dégagement de gaz carbonique en fonction du temps, dans la fermentation de 460 mg. d'inuline par 0,5 cm³ ou 1 cm³ de suspension de levure, dans 20 cm³ de volume total, à 32°C., dans le vide.

Ces résultats permettent les constatations suivantes :

La fermentation de l'inuline est déclenchée par une eau de macération de levure. La mise en train est pénible puisqu'au bout de 15 à 16 heures, seulement 3,5 mg. de gaz carbonique, en moyenne, sont formés. La vitesse ne s'accroît que fort lentement jusque vers la trentième heure ; à ce moment, elle augmente nettement et semble rester uniforme jusque vers la 80e heure. Puis elle diminue et devient très faible : le dégagement gazeux n'est plus alors qu'extrêmement lent. Au bout de 4 à 5 jours de fermentation nous obtenons toujours environ le même poids de gaz carbonique : 110 mg. La quantité de gaz carbonique semble atteindre une limite qu'elle ne peut guère dépasser. Nous avons d'ailleurs vérifié que la levure extraite du milieu au bout de 4 jours, fait fermenter immédiatement le glucose, comme de la levure fraîche.

Il y a lieu de noter de légères différences suivant les fermentations. L'allure du phénomène est la même, mais on constate des variations d'une opération à l'autre, variations qui sont plus nettes vers le milieu de la fermentation. Ainsi après 65 heures nous obtenons 83,5, 70,8, 74,3 et 64 mg. de gaz carbonique. Le début et la fin de la fermentation montrent plus de régularité. Nous verrons plus loin comment expliquer ces faits.

B.) La dose de levure ne semble pas avoir une grosse influence sur la vitesse de fermentation ainsi que le montrent les résultats indiqués ci-dessus : les valeurs obtenues sont absolument du même ordre ; il est vrai que ces doses de levure sont relativement importantes.

C.) Quelques expériences ont été faites en doublant la quantité d'inuline. Voici les résultats obtenus :

Concentration d'inuline.....	2,5 p. 100			5 p. 100		
Durée de fermentation (heures)..	63	86	133	67	96	144
Poids gaz carbonique (mg).....	94,69	113,14	122,65	124,57	139,73	156

La quantité de gaz carbonique est loin d'être doublée. Son augmentation diminue avec le temps de la même manière que nous l'avons déjà constaté. La limite atteinte n'est pas supérieure de beaucoup à celle déjà mentionnée.

Enfin, pour être complet, ajoutons que la présence de toluène ne semble nullement provoquer un « empoisonnement » de la levure et être la cause du ralentissement final de la fermentation : les résultats obtenus sont identiques sans toluène, en opérant en milieu aussi stérile que possible.

Formation d'alcool. — Devant l'allure particulière du dégagement du gaz carbonique, nous nous sommes demandé si nous étions bien en présence d'une fermentation alcoolique. Y a-t-il effectivement dans le milieu apparition d'alcool, et ceci dans un rapport équimoléculaire avec le gaz carbonique, soit théoriquement : gaz carbonique/alcool = 0,96 ?

Nous n'avons pas dosé l'alcool dans toutes nos fermentations ; la mesure du gaz carbonique est en effet plus simple et permet plus aisément de suivre simultanément plusieurs expériences. Dans tous les essais effectués nous avons trouvé de l'alcool et du gaz carbonique en proportions équimoléculaires ; en voici quelques exemples :

Durée de fermentation (heures)	Poids gaz carbonique (mg.)	Poids alcool (mg.)	Rapport $\frac{\text{Gaz carbonique}}{\text{alcool}}$
67	124,57	126	0,98
100	83,47	87	0,96
134	111,37	114,5	0,97
186	118,10	122,63	0,96

Le rapport est presque toujours théorique ; cependant nous avons obtenu dans quelques expériences un excès de gaz carbonique par rapport à la quantité d'alcool :

Durée de fermentation (heures)	Poids gaz carbonique (mg.)	Poids alcool (mg.)	Rapport Gaz carbonique / alcool
158	111,6	101,3	1,10
144	156,8	145,5	1,07
65	102,7	94,5	1,08

Il est vrai que malgré les précautions de refroidissement prises, l'extraction du gaz carbonique peut occasionner une légère évaporation de l'alcool.

D'ailleurs et pour de toutes autres raisons, les constatations que nous ferons par la suite montrent que l'obtention d'un excès de gaz carbonique n'est pas impossible.

3° *Non hydrolyse de l'inuline et du saccharose par l'eau de levure.*

Nous avons vérifié que cette fermentation alcoolique ne fait pas suite à un dédoublement de la molécule d'inuline qui ferait apparaître du fructose immédiatement fermentescible. A aucun moment il ne se forme de sucre réducteur : ni dans une fermentation d'inuline, ni dans une solution d'inuline dans l'eau de levure placée dans les mêmes conditions (32°C, vide), ce qui ne veut pas dire que dans ce dernier cas on retrouve toute l'inuline mise en expérience. Voici quelques essais effectués avec 460 mg. d'inuline initiale et avec 3 eaux de levures différentes :

Durée (heures)	Sucre réducteur (fructose) en fin d'expérience, avant hydrolyse (mg.)	Inuline retrouvée en fin d'expérience, après hydrolyse (mg.)
47	0	402,5
69	0	449,8
120	3,45	359,2

Comme en présence de levure seule, il disparaît donc lentement de l'inuline en présence d'eau de levure, mais *il n'existe pas de diastase dans l'eau de levure qui permette une hydrolyse, même lente, de l'inuline.* Nous nous en sommes encore assurée en laissant du saccharose en contact avec l'eau de levure à 32°C ; au bout de 2 et 3 jours nous n'avons obtenu aucune réduction de la liqueur de Fehling (formule de Fontès et Thivolle). La présence de sucrase dans l'eau de levure eût été d'ailleurs surprenante après les 3 heures de chauffage à 85°C qu'elle subit à la fin de sa préparation.

Ajoutons que s'il s'agissait d'une fermentation consécutive à l'hydrolyse de l'inuline, *nous assisterions à une fermentation normale de fructose,* dont nous connaissons bien les caractéristiques, et qui n'a aucun rapport avec les phénomènes que nous venons de décrire ni avec ceux que nous constaterons par la suite. Il serait superflu d'insister.

4° *Evolution de la levure.*

Nous avons vérifié que cette fermentation alcoolique ne provient pas d'une multiplication rapide des cellules de levure que pourrait entraîner la présence de certaines formes d'azote de l'eau de levure. Nous avons compté les cellules d'une dilution convenable de la suspension de levure au moyen d'une cellule de Thoma. Nous avons fait deux prises au moins pour chaque échantillon de levure, et compté les cellules contenues dans 1/25.000 mm³; les chiffres indiqués sont la moyenne de six lectures.

Durée de la fermentation (heures)	Nombre de cellules
0	76
41	65
54	66
111	51

On voit donc diminuer le nombre des cellules de levure d'autant plus que la fermentation est plus longue. Nous avons cependant constaté une variation du poids de la levure analogue à celle relevée dans le cas des fermentations du glucose et du maltose. En voici un exemple :

460 mg. inuline, 5 cm³ eau de levure, 98 mg.,6 levure comptés en substance sèche, 20 cm³ volume total, à 32° C., dans le vide.

Durée de la fermentation (heures)	40	66	88
Variation de poids de la substance sèche de la levure (mg.)	+21,8	+14,6	0

Alors que la diminution du nombre des cellules est déjà sensible, la levure a augmenté de poids ; cet accroissement n'est donc pas le fait du microorganisme, mais bien plutôt des produits de la fermentation. Le maximum observé est inférieur à celui obtenu dans le cas du maltose, mais le phénomène a même allure.

Par la suite, la durée de fermentation se prolongeant, la levure perd du poids (46 mg. à partir de 206 mg. pour 182 heures de fermentation), mais la diminution du nombre des cellules (1/3 du nombre primitif) est supérieure à la perte de poids de la levure (moins de 1/5 du poids primitif) : les matériaux des vieilles cellules ont servi de nourriture aux survivantes.

5° *Fermentation de l'eau de levure seule.*

Nous avons réalisé des fermentations d'eau de levure dans des conditions identiques à celles des fermentations d'inuline, pour pouvoir déduire de ces dernières les quantités d'alcool et de gaz carbonique attribuables aux glucides de l'eau de levure. En effet, par sa préparation même, l'eau de levure contient des corps de nature glucidique, susceptibles de former du gaz carbonique et de l'alcool en présence de levure. Nous l'avons

constaté et en avons dosé les quantités formées. Nous avons obtenu les résultats suivants pour 4 fermentations différentes, de durée variable.

Solutions composées avec 5 cm³ d'eau de levure, 0,5 cm³ suspension de levure, pour un volume total de 20 cm³. Fermentation à 32° C, dans le vide.

Durée de fermentation (heures)	40	63	88	94
Poids gaz carbonique (mg.). ..	20	50,4	49,5	52,63

Nous avons également, à deux reprises, suivi le dégagement gazeux d'une même fermentation d'eau de levure, par ailleurs dans les mêmes conditions expérimentales que précédemment.

Durée de fermentation (heures).	37	57	70	94
Poids gaz carbonique (mg.)....	12,36	30,67	50,98	63,91

Ces chiffres paraissent un peu discordants à première vue ; on peut cependant faire les remarques suivantes. Vers la soixantième heure le dégagement de gaz carbonique semble terminé ; il atteint alors une valeur, limite semble-t-il, de 50 mg. environ. Pourtant le palier que présenterait une courbe de la formation du gaz carbonique en fonction du temps semble contredit par la dernière expérience rapportée : au bout de 70 heures le dégagement paraît complet et cependant si nous refaisons le vide et remettons le ballon à fermenter, 24 heures après il s'est formé une nouvelle quantité de gaz carbonique.

Nous avons recherché si de l'alcool apparaît en quantité équimoléculaire et nous avons été surprise de n'en trouver toujours qu'une quantité fort petite : 10 à 11 mg. en fin de fermentation de l'échantillon d'eau de levure précédent, quantité qui semble bien prendre naissance en même temps que les premiers centimètres cubes de gaz carbonique. Elle correspond d'ailleurs approximati-

vement aux glucides réducteurs obtenus par hydrolyse de l'eau de levure (25 mg. comptés en glucose).

Le déséquilibre est flagrant entre alcool formé et gaz carbonique finalement dégagé. Ce gaz carbonique ne provient donc pas uniquement d'une fermentation alcoolique normale ; ce n'est même qu'une faible partie (1/5 environ) qui en résulte. Nous avons pensé à de l'acide carbonique combiné, mais 10 cm^3 d'acide chlorhydrique normal ajoutés à l'eau de levure ne font apparaître aucune quantité appréciable de gaz carbonique, après fermentation comme avant. *Nous croyons logique, bien que nous ne l'ayons pas vérifié expérimentalement, d'expliquer cet excès de gaz carbonique par la décarboxylation lente des acides aminés présents dans l'eau de levure, par la carboxylase de la levure.*

L'eau de levure est donc le siège d'une fermentation alcoolique singulière par la grande quantité de gaz carbonique formé. D'ailleurs il est probable que cette eau de macération de levure ne reste pas toujours identique à elle-même ; ce milieu complexe évolue. En la maintenant à 32°C pendant quelques jours, il apparaît des corps réduisant très faiblement la liqueur de Fehling ; mais le précipité de sous-oxyde de cuivre obtenu n'est jamais pulvérulent et il est impossible de le doser car il passe à travers le filtre d'amiante de Fontès et Thivolle : c'est le mode d'action sur le Fehling de glucides, genre glycogène, à poids moléculaire élevé.

6° *Rapport CO^2 obtenu/sucre disparu dans la fermentation de l'inuline en présence d'eau de levure.*

Le rapport de l'alcool formé (ou du gaz carbonique apparu) au sucre disparu est théoriquement de 51 p. 100 (ou de 49 p. 100). Nous venons de voir que l'eau de levure en présence de levure donne elle aussi de l'alcool et du gaz carbonique ; nous allons donc avoir à considérer deux rapports : un rapport apparent, celui de la fermen-

tation du couple inuline + eau de levure, et un rapport « réel » obtenu avec la quantité d'alcool provenant véritablement de l'inuline, défalcation faite de celle occasionnée par l'eau de levure. Nous allons d'ailleurs, dans le tableau ci-dessous, exprimer cette dernière en quantité équimoléculaire du gaz carbonique, ce qui nous permettra de réaliser nos expériences de fermentation d'inuline en présence d'eau de levure par simple mesure de gaz carbonique.

Fermentation de 460 mg. d'inuline, 5 cm³ d'eau de levure, 1 cm³ suspension levure, volume total : 20 cm³, à 32° C., dans le vide.

Durée de la fermentation (heures)	Gaz carbonique obtenu dans la fermentation d'inuline (mg.)	Gaz carbonique équimoléculaire à l'alcool formé dans la fermentation d'eau de levure (mg.)	Inuline disparue (mg.)	Rapport CO_2/sucre disparu (multiplié p. 100)	
				apparent	réel
16	3,62	—	29	12,4	—
20	27	10,0	150	18	11,3
46	63,8	10,0	282	22,6	19,0
65	74,3	10,0	301	24,6	21,3
100	85,28	10,0	345	24,7	21,8
16	5,52	—	29	19,0	—
29	11,45	—	66	17,3	—
62	89,85	10,0	300	29,9	26,6
93	103,52	10,0	370	27,9	25,2
94	114,61	10,0	409	28,0	25,5
134	111,37	10,0	400	27,8	25,3
158	111,6	10,0	430	25,9	23,6
182	118,1	10,0	429	27,5	25,1

Ce rapport est donc extrêmement faible au début, beaucoup plus faible encore que dans le cas du maltose,

puis il augmente sans jamais dépasser 30 p. 100. En fin d'expérience, au moment où les produits terminaux n'apparaissent plus que très lentement, de l'inuline continue à disparaître et le rapport baisse de nouveau. Cette dernière particularité différencie essentiellement ce phénomène d'une fermentation de glucose ou de maltose.

Notons de nouveau cette disparition lente de glucide qui n'aboutit pratiquement plus à donner de l'alcool et du gaz carbonique.

Nous avons vérifié, enfin, que le ralentissement du phénomène au bout d'un certain temps, n'était point dû à une action empêchante des produits formés, malgré ce qu'une telle supposition avait d'invraisemblable en elle-même, surtout à la suite des résultats indiqués plus haut. L'élimination de l'alcool par distillation dans le vide, pas plus que l'évacuation de gaz carbonique, ne provoquent une accélération de la fermentation, ainsi que le montrent les résultats ci-dessous :

Fermentation de 460 mg. d'inuline, 5 cm³ d'eau de levure, 1 cm³ de suspension de levure, volume total de 20 cm³, à 32° C., dans le vide.

Durée (heures)	Poids du gaz carbonique obtenu (mg.)		
	Fermentation-témoin	Fermentation dont on a extrait l'alcool après 87 heures	Fermentation dont on a extrait l'alcool après 93 heures
87	120,74	102,3	
93			117,19
117	132,26	106,41	
159	137,22	108,89	120,38

Pas davantage on ne peut invoquer un abaissement du pH, surtout, après l'évacuation du gaz carbonique ; le pH de la liqueur en fin d'opération a toujours été trouvé voisin de 4.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS OBTENUS.

Cette fermentation de l'inuline, telle que nous venons de la décrire, pose un certain nombre de problèmes que nous allons exposer et pour lesquels nous émettrons quelques hypothèses quand il ne sera pas possible de donner une explication rationnelle.

1° *Ce n'est pas une fraction déterminée de la molécule d'inuline qui fermente.*

Cette propriété aurait pu permettre de rapprocher l'inuline des fructoholosides étudiés précédemment ; mais dans ce cas une quantité double d'inuline ferait apparaître une quantité double de gaz carbonique et d'alcool ; or il n'en est pas ainsi (voir Chapitre III, p. 39). C'est la molécule d'inuline dans son ensemble qui subit le phénomène.

2° *Rôle de l'eau de levure dans la fermentation de l'inuline.*

L'inuline seule ne fermente pratiquement pas, du moins si l'on pose en principe qu'une fermentation alcoolique se manifeste obligatoirement par l'apparition d'alcool et de gaz carbonique. Après addition d'eau de levure nous constatons que la disparition d'inuline s'accompagne de la formation de gaz carbonique et d'alcool. Cette fermentation n'est d'ailleurs pas régulière : elle commence lentement pour s'accélérer ensuite, la vitesse redevenant très petite au bout d'un certain temps. Le rôle de l'eau de levure paraît être de déclencher le phénomène ; elle l'entretient un certain temps, puis tout se ralentit de nouveau. Il ne semble pas qu'on puisse parler ici d'un effet accélérateur de l'eau de levure sur une fer-

mentation déjà existante, comme c'est le cas pour le maltose et certains fructoholosides.

De plus, l'inuline avec l'eau de levure présente une fermentation véritablement « alcoolique », alors que lorsque l'eau de levure fermente seule, des phénomènes secondaires viennent se superposer à la fermentation alcoolique.

Ces faits nous amènent à envisager les hypothèses possibles sur le véritable rôle de l'eau de levure.

3° *Hypothèses sur l'action de l'eau de levure.*

La fermentation de l'inuline ne se déclenche qu'après 15 à 20 heures ; ce fait semble exclure l'idée de la présence initiale dans l'eau de levure d'un facteur qui serait la cause de cette fermentation. Il nous semble bien plutôt qu'il s'agit ici de la création d'un certain milieu favorable qui devient d'ailleurs inhibiteur par la suite.

Comment expliquer la formation de ce milieu favorable ? Les résultats que nous apportons ci-dessus ne nous permettent que des hypothèses. L'eau de levure est rapidement le siège d'une fermentation ; pourrait-on attribuer à ces phénomènes du début le déclenchement de la fermentation de l'inuline ? Cette idée serait cependant démentie par le fait qu'une fermentation initiale de saccharose a une influence bien moindre sur la dégradation de l'inuline que l'eau de levure.

Voici d'ailleurs les résultats d'un essai à ce sujet :

On a fait fermenter dans les conditions ordinaires 460 mg. d'inuline additionnés de 100 mg. de saccharose, pendant 70 heures. Les quantités de produits finaux recueillis ont été de :

Alcool : 52 mg.	Gaz carbonique : 49 mg.,3
Quantité d'inuline disparue	64 mg.
Poids final du résidu sec de la levure.....	128 mg.,2
Poids initial du résidu sec de la levure.....	99 mg.,2
Augmentation de poids	29 mg.

Dans une fermentation-témoin de 100 mg. de saccharose, toutes conditions étant égales d'ailleurs, on a recueilli (quantités formées en 6 à 8 heures) :

Alcool : 41 mg. Gaz carbonique : 40 mg.

On en conclut que les 64 mg. d'inuline disparue ont fourni 11 mg. d'alcool et 9 mg.3 de gaz carbonique, soit un rapport alcool/sucre disparu de 17 p. 100 environ.

Ce résultat, tout en dépassant ceux obtenus avec la levure seule est loin d'atteindre ceux de la fermentation d'inuline en présence d'eau de levure.

Cependant, le liquide de fermentation du saccharose double presque la vitesse de l'attaque du maltose par la levure Fala. Il faut donc voir autre chose dans l'action de l'eau de levure sur l'attaque de l'inuline. D'ailleurs l'aldéhyde éthylique n'a aucune action sur la fermentation de l'inuline ; ce ne sont donc pas uniquement les produits intermédiaires ou secondaires, formés au début, qui seraient à l'origine du départ de la dégradation de l'inuline.

Peut-être est-ce la singularité de la fermentation de l'eau de levure qui crée ce milieu propice au démarrage de la fermentation de l'inuline ? L'eau de levure seule ne se comporte pas en effet comme en présence d'inuline : l'abondant dégagement de gaz carbonique en excès n'apparaît plus (ou extrêmement peu) quand l'inuline est présente (1). Les modifications de l'eau de levure semblent disparaître derrière la fermentation de l'inuline ; c'est cette dernière seule que nous constatons. On pourrait admettre la formation dans le milieu, au bout d'un certain temps, de produits accélérants résultant de synthèses complexes aux dépens des amines qui ont pris naissance et du gaz carbonique provenant de la décar-

(1) Il n'est pas exclu d'ailleurs que, même en présence de toluène, des activités bactériennes anaérobies s'exercent dans ce jus de levure insuffisamment stérilisé. En tous cas le liquide de fermentation d'inuline en présence d'eau de levure ne présente jamais la mauvaise odeur qui se dégage d'une fermentation d'eau de levure seule.

boxylation des acides aminés (gaz carbonique qui se recombinerait presque intégralement), mais cette hypothèse n'est basée sur aucune preuve.

Pourquoi, le milieu étant favorable au début, la fermentation de l'inuline s'arrête-t-elle au bout d'un certain temps ? Il s'agit vraisemblablement d'une évolution de ce jus, complexe dès l'abord, et qui doit le devenir davantage au fur et à mesure que se poursuit la fermentation. Il se forme alors une véritable macération de levure dont l'effet peut très bien être celui d'une eau de levure inapte à la catalyse, comme nous en avons préparée par autolyse trop prolongée (voir chapitre II).

Il y a peut-être destruction des substances accélératrices qui s'étaient formées ou apparition de corps inhibiteurs, ou simplement le milieu devient-il moins propice parce que certains équilibres sont rompus et que les phénomènes normaux s'en trouvent déviés. L'évolution du milieu n'est d'ailleurs pas absolument régulière dans le temps ; c'est sans doute ce qui amène les différences constatées dans la marche du phénomène.

Tout ceci est une confirmation de l'hypothèse émise au chapitre II : bien plutôt qu'en y apportant un ou des facteurs définis, l'eau de levure crée dans le liquide en fermentation des conditions favorables au démarrage et à l'entretien de la formation de l'alcool et du gaz carbonique. Il reste évidemment à expliquer le mécanisme intime des phénomènes dont nous ne faisons que la constatation globale, *car le milieu est vraisemblablement le siège d'une somme d'actions diverses, dont nous ne mesurons que la résultante.*

Dans le cas de nos essais le milieu devient à la longue inhibiteur, mais il n'est pas impossible *a priori* de concevoir la réalisation d'un milieu apte à faire fermenter l'inuline avec de meilleurs rendements.

Essais de détermination des substances secondaires ou accessoires formées en cours de fermentation.

Il semble qu'avec des rapports alcool formé/sucre disparu tellement faibles, il soit possible de mettre en évidence dans le milieu des quantités notables de produits accessoires.

Par acquit de conscience, nous avons d'abord vérifié que ces jus aux pH acides (voisins de 4) ne renferment pas d'acide pyruvique. Par des techniques colorimétriques, il nous a semblé mettre en évidence de l'acide lactique, mais cela aurait besoin d'être contrôlé par des déterminations plus sûres que nous nous proposons d'entreprendre ultérieurement.

L'idée qui venait ensuite était de rechercher la glycérine, soit libre, soit combinée à l'acide phosphorique en concordance avec les constatations de Polonovski [9] et de ses élèves dans la glycolyse sanguine.

A. — Dosage de la glycérine libre.

Les glycérophosphates n'étant hydrolysés que très faiblement par l'acide chlorhydrique concentré à l'ébullition, il était à prévoir que notre technique de dosage de la glycérine par micro-Zeisel [5, 6] allait nous permettre de déterminer la glycérine seule. Voici les résultats obtenus dans trois fermentations effectuées avec trois eaux différentes de macération de levure et poursuivies jusqu'à disparition presque complète de l'inuline. Le jus de fermentation était au préalable déféqué par un volume égal d'acide trichloracétique à 20 p. 100.

	Durée	Inuline disparue (mg.)	Glycérine totale obtenue (mg.)	Glycérine p. 100 de sucre
1re fermentation	4 jours	460	17,83	3,8
2e fermentation	4 jours	362	14,56	4,0
3e fermentation	7 jours	437	16,17	3,7

Ces quantités sont en tous points de l'ordre de celles obtenues par les auteurs qui ont déterminé la glycérine dans des fermentations de saccharose ou de glucose. *Nos fermentations d'inuline conduisent donc aux quantités habituelles de glycérine trouvées dans la fermentation alcoolique normale.*

B. — Etude du phosphore dans les fermentations « catalysées » d'inuline.

Nous avons jugé opportun de pousser cette étude jusque dans le détail.

1° *Mode opératoire et technique des dosages utilisés.*

Nous avons utilisé les techniques proposées par L. Thivolle [27, 28, 29] auxquelles nous renvoyons pour tous les détails expérimentaux.

Phosphore total. — Les substances organiques de la levure et des liquides fermentés sont aisément détruites par l'attaque cupro-nitrique. La précipitation molybdique en milieu sulfurique à l'ébullition se fait ensuite très régulièrement ; elle entraîne quantitativement la totalité du phosphore.

Phosphore des ortho et des pyrophosphates. — Dans le cas de nos liquides fermentés renfermant différentes formes de phosphore, nous avons toujours dosé le phosphore des ortho et pyrophosphates à l'état de phosphore orthophosphorique après une hydrolyse préalable en milieu acide normal. Nous avons en effet constaté que la précipitation à l'ébullition, en milieu sulfurique concentré, entraînait d'autres formes de phosphore que les deux précédentes. Nous avons vérifié par ailleurs que les pyrophosphates s'hydrolysent quantitativement après dix minutes de séjour au bain-marie bouillant.

Le Phosphore des orthophosphates est précipité à froid suivant la technique récente de L. Thivolle. La diffé-

rence entre ces deux dernières formes de phosphore conduit au phosphore des pyrophosphates.

Les hexosesphosphates sont de même dosés comme orthophosphates après un séjour de 3 heures en milieu chlorhydrique normal, au bain-marie bouillant, qui les hydrolyse totalement. La différence entre ce dosage et celui du phosphore acidosoluble à froid dans nos conditions expérimentales, donne la quantité de phosphore provenant des hexosesphosphates.

Les glycérophosphates ont résisté à toutes nos attaques : après 3 heures de contact, à l'ébullition, au réfrigérant à reflux, avec de l'acide chlorhydrique concentré pur, nous n'avons obtenu comme orthophosphate que 1/10 à peine de la quantité de glycérophosphate mise en jeu.

Nous avons considéré les glycérophosphates comme phosphore organique, non hydrolysable, comprenant en plus sous cette dénomination le phosphore nucléinique et celui des phosphatides.

Voici d'ailleurs comment nous avons procédé pour le *dosage des différentes formes de phosphore dans la levure :*

0,5 cm³ de notre suspension de levure, représentant 98 mg. de substance sèche initiale, ont été additionnés avant et après fermentation de 19,6 cm³ d'acide chlorhydrique normal et traités de la manière suivante. Une agitation énergique de 1/2 heure fait passer en solution tout le phosphore des ortho et pyrophosphates et une petite quantité d'autres phosphates. Puis le culot de centrifugation de levure déjà traitée par agitation, est remis, après lavage, en milieu chlorhydrique normal et soumis à une ébullition de 1/4 heure. Les hexosesphosphates, non dissous dans le premier temps, le sont maintenant ; ils sont dosés comme nous l'avons dit plus haut. Enfin le reste du phosphore total est dosé sur la levure déjà

traitée, une petite quantité échappant aux dissolutions successives.

Ces dénominations de phosphore pyrophosphorique ou d'hexosesphosphates peuvent paraître arbitraires et ne recouvrent peut-être pas entièrement la réalité des corps dosés ; elles n'en permettent pas moins une détermination approchée des différentes formes du phosphore et leur comparaison dans la levure et dans le liquide, avant et après fermentation.

Pour ce qui est du *liquide fermenté,* nous nous sommes livrée à une investigation analogue à la précédente. Notre expérimentation a cependant été simplifiée du fait de la présence des phosphates à l'état déjà dissous : une hydrolyse de 15 minutes, une autre de 3 heures, permettent de doser respectivement les pyrophosphates et les hexosesphosphates, les orthophosphates étant dosés directement après défécation trichloracétique.

Ce moyen d'étude nous a conduit aux résultats que nous allons exposer maintenant.

2° *Résultats obtenus.*

a) *La migration du phosphore.* — Nous avons tout d'abord dosé le phosphore total dans la levure et dans les liquides fermentés.

Un travail analogue a été fait par Ellion [30]. Cet auteur a déterminé la disparition du sucre et le sort parallèle de phosphore introduit dans le milieu fermentaire ; il signale le passage intégral du phosphore dans la levure, puis sa redissolution partielle dans le liquide fermenté. Son étude a été faite sur des fermentations de glucose dans des moûts industriels. Nous avons obtenu des résultats comparables dans nos fermentations d'inuline.

Voici les variations présentées par le phosphore total, que nous avons observées dans des fermentations d'inuline de durées croissantes :

Milieu composé de : 460 mg. insuline, 5 cm³ eau de levure, 0,5 cm³ levure (93 mg. substance sèche). Eau distillée q. s. p. 20 cm³. Fermentation à 32° C., dans le vide.

Durée (heures)	Phosphore de la levure (mg.)	Phosphore du liquide (mg.)
0	1,29	5,95
16	1,40	5,88
40	1,78	5,50
70	1,40	5,86

En ce qui concerne le *liquide fermenté*, il y a perte de phosphore du début jusque vers la quarantième heure, dans la proportion de 7,5 p. 100 du phosphore initial. Ce phosphore, disparu du milieu liquide, y réapparaît ensuite pour une durée plus longue de fermentation ; il est probable qu'au bout d'un temps suffisamment long, il serait intégralement retrouvé ; peut-être même en constaterait-on une augmentation. Une variation, mais en sens inverse de la précédente, a lieu dans la *levure elle-même :* on assiste à un balancement entre le phosphore total de la levure et celui du liquide. Les valeurs relevées ci-dessus ne se recouvrent pas absolument ; mais en tenant compte des erreurs d'expériences possibles (de 1 à 2 p. 100), on peut admettre que la totalité du phosphore perdu par le liquide est gagnée par la levure et inversement.

Comment expliquer ces migrations du phosphore en cours de fermentation ? Plusieurs raisons sont également plausibles. Le sucre doit subir une phosphorylisation pour être susceptible de se dégrader ensuite en gaz carbonique et alcool. Cette opération a lieu à l'intérieur de la cellule de levure (les hexosesphosphates ne se retrouvent pas dans le milieu liquide durant la fermentation, comme nous le verrons plus loin). Il est permis de supposer que le phosphore apporté par l'eau de levure participe à cette estérification et qu'il accompagne le sucre quand ce dernier pénètre dans la levure. Il paraît d'au-

tant plus vraisemblable d'admettre cette utilisation du phosphore par l'inuline, que sa disparition maximum coïncide avec l'activité maximum de la fermentation, laquelle se place vers la 40e heure ; peut-être même est-ce cet apport de phosphore par l'eau de levure qui est à l'origine d'une plus grande vitesse de fermentation. A la fin de la fermentation, le phosphore, de moins en moins nécessaire et au glucide et à la levure, rediffuse dans le liquide. Ou bien c'est simplement l'éclatement des cellules en fin d'opération, qui libère dans le milieu le phosphore qu'on y retrouve. Il suffit de se rappeler la perte du poids de la levure et la diminution du nombre de ses cellules rapportées plus haut.

Ces constatations étant faites quant à la teneur en phosphore total du liquide fermenté et de la levure, il était intéressant de chercher à savoir quelles étaient les formes de phosphores susceptibles de participer plus activement à ces migrations. Nous allons exposer les résultats de nos recherches entreprises à ce sujet.

b) *Les différentes formes du phosphore au cours de la fermentation.*

Dans la levure. — Le mode opératoire décrit plus haut nous a permis d'aboutir aux résultats suivants :

Fermentation de 460 mg. d'inuline, 5 cm³ eau de levure, 0 cm³,5 levure (98 mg. substance sèche) ,volume total : 20 cm³, durée : 88 heures à 32°C., dans le vide ; sucre disparu : 250 mg.

	Levure initiale (mg.)	Levure fermentée (mg.)
Phosphore total.....	1,277	1,764
Phosphore des orthophosphates...	0,235	0,361
Phosphore des pyrophosphates....	0,112	0,093
Phosphore des hexosesphosphates.	0,241	0,297
Phosphore organique, insoluble ou non hydrolysable (comprenant les glycérophosphates).....	0,689	1,013

Notons tout d'abord une augmentation du phosphore total supérieure à celle indiquée précédemment pour la même durée de fermentation ; elle provient de l'emploi d'une eau de levure de pouvoir catalytique plus élevé.

Ces chiffres permettent de constater, dans la levure fermentée par rapport à la levure initiale, une augmentation très nette du phosphore organique et une légère augmentation des ortho et des hexosesphosphates. L'augmentation du phosphore organique ne paraît pas pouvoir être due à du phosphore protoplasmique, étant donnée la diminution du nombre des cellules de levure. Il nous semble plutôt provenir des acides glycérophosphoriques qui se forment très vraisemblablement dans cette fermentation alcoolique. L'augmentation des hexosesphosphates résulte tout naturellement de la phosphorylisation. Quant aux différences constatées pour les ortho et les pyrophosphates, sans y attacher beaucoup d'importance, nous pouvons penser qu'elles font suite à des transformations des différents phosphates les uns dans les autres, dans ce milieu à pH acide.

Dans les liquides fermentés. — Le liquide de la fermentation dont nous venons d'étudier la levure nous a donné les résultats suivants :

	Eau de levure initiale (mg.)	Liquide fermenté (mg.)
Phosphore total.....	4,65	4,04
Phosphore des orthophosphates...	2,55	3,13
Phosphore des pyrophosphates....	0,85	0,28
Phosphore des hexosesphosphates.	0,39	0,09
Phosphore organique.....	0,86	0,54

Le phosphore total perdu par le liquide se retrouve très approximativement dans la levure. Les hexosesphosphates ont presque disparu totalement ; la fermentation

est loin d'être complète (200 mg. d'inuline subsistent) ce qui explique ce reste d'hexosesphosphates. Comme dans la levure elle-même notons l'augmentation des orthophosphates et la diminution des pyrophosphates ; il est encore ici très vraisemblable de supposer qu'après 3 jours 1/2 à 32°C une partie des pyrophosphates a été hydrolysée en orthophosphates. D'ailleurs ces variations entre les différentes formes du phosphore ne s'équilibrent pas exactement dans le liquide et dans la levure ; les pertes constatées pour une forme dans le liquide ne sont pas compensées toujours par un gain dans la levure. Ceci confirmerait ce que nous avons dit plus haut, à savoir l'existence probable de transformations entre les différentes formes du phosphore au cours de la fermentation.

Voici les résultats d'une autre fermentation, ils sont du même ordre que les précédents :

Fermentation de 460 mg. d'inuline, 5 cm³ d'eau de levure, 0 cm³,5 levure (98 mg. substance sèche), volume total : 20 cm³. Durée : 65 heures, à 32° C., dans le vide. Sucre disparu : 301 mg.

	Eau de levure initiale (mg.)	Eau de levure fermentée (mg.)	Liquide de fermentation d'inuline (mg.)
Phosphore total.....	7,17	7,16	7,22
Phosphore des orthophosphates	5,12	—	6,14
Phosphore des pyrophosphates.	0,55	—	0,57
Phosphore des hexosesphosphates	0,66	0,00	0,00
Phosphore organique.....	0,84	0,76	0,51

L'eau de levure employée est différente de la précédente ; son phosphore total en est supérieur. Ce sont essentiellement les orthophosphates qui augmentent dans le

liquide fermenté ; comme précédemment les hexosesphosphates en ont disparu. Quant au phosphore organique, il semble être le même dans l'eau de levure quelle que soit sa préparation et ceci avant et après sa fermentation.

Rapprochons en passant l'augmentation du phosphore total et celle de la vitesse de fermentation.

Notons la disparition des hexosesphosphates dans le liquide, elle coïncide avec la disparition de l'inuline.

En ce qui concerne le taux maximum de glycérine provenant de la dégradation de l'inuline et susceptible d'exister dans le milieu sous forme d'acides glycérophosphoriques, nous constatons que même en mettant les choses au mieux et en comptant en glycérophosphates tout le phosphore organique nous obtenons au maximum quelques mg. de glycérine soit au plus 1 p. 100 du sucre disparu.

Tous calculs faits, il reste donc au moins 30 p. 100 soit 100 à 150 mg. de l'inuline disparue, que nous ne retrouvons plus en fin d'expérience et dont nos déterminations ne permettent nullement d'expliquer le sort. Sans renoncer à rechercher sous quelles formes, sans doute multiples, ils peuvent exister dans le milieu, nous avons jugé que ces expériences longues et délicates sortaient du cadre que nous nous étions assigné pour le présent travail.

Remarques et déductions pratiques concernant la fermentation « catalysée » de l'inuline (1).

Les quantités respectives d'alcool et de gaz carbonique, celles de glycérine, montrent qu'il faut, à n'en pas douter, appeler « fermentation alcoolique » le phénomène que nous avons mis en évidence ci-dessus pour l'inuline en

(1) R. Guillemet et Mlle H. Leroux. — Sur la variabilité du bilan de la fermentation des glucides par la levure. Conséquences pratiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **128**, 74.

présence de levure et d'eau de levure. Puisque de l'inuline disparaît déjà en présence de levure seule, *l'adjonction d'eau de levure a pour effet très net de permettre à la dégradation du glucide d'atteindre les produits terminaux de la fermentation alcoolique :* alcool et gaz carbonique n'apparaissant pratiquement pas en l'absence d'eau de levure.

Puis au bout d'un certain temps, de nouveau le milieu devient presque inapte à la production d'alcool bien que l'inuline continue à disparaître lentement. *A priori,* il n'est pas impossible de concevoir qu'on pourrait arriver à modifier le milieu de fermentation pour que cette aptitude à la fermentation totale persiste jusqu'à la disparition complète de l'inuline ; mais nous ne pouvons pas songer, dans l'état actuel de ces expériences, à préconiser une telle fermentation dans le but pratique de l'obtention de l'alcool à partir de l'inuline. Les inconvénients de l'hydrolyse préalable à la fermentation ultérieure du fructose sont largement compensés par l'amélioration du rendement en alcool.

Mais le fait le plus important mis en évidence par nos expériences est la disparition possible d'une grande quantité de sucre sans apparition concomitante des produits finaux de la fermentation. Nos résultats apportent une singulière confirmation à l'idée émise il y a quelques années par Guillemet [2] en ce qui concerne la formation *incertaine* d'alcool et de gaz carbonique aux dépens de glucides très difficilement fermentescibles, dont on observe la disparition dans un milieu contenant des adjuvants fermentaires, comme c'est le cas pour la lévosine dans la fermentation panaire.

En d'autres termes, dans certains milieux complexes, seule l'estimation exacte des produits finaux peut donner une idée de l'efficacité de la disparition des sucres pour la production d'alcool et de gaz carbonique.

Nous serions tentée d'ajouter, à la suite de ce que nous avons observé dans la fermentation de l'eau de levure

seule, qu'il est prudent de joindre des déterminations d'alcool à celles du gaz carbonique si l'on veut avoir une idée absolument exacte de la marche des phénomènes fermentaires, au moins dans certains cas.

CONCLUSIONS RELATIVES A LA FERMENTATION ALCOOLIQUE EN GÉNÉRAL.

Les faits rassemblés dans ce travail au sujet de l'attaque des glucides par la levure nous permettent les conclusions suivantes :

1° La fermentation alcoolique présente la même allure générale pour un sucre de structure simple, comme le glucose ou complexe, comme l'inuline : formation d'alcool, de gaz carbonique, de produits secondaires connus et disparition d'une certaine quantité de glucide sans formation corrélative des produits terminaux habituels. Dans les fermentations très pénibles comme l'est celle de l'inuline, ce dernier phénomène prend une importance particulière, mais dans tous les cas nous avons retrouvé l'existence de ce « sucre dissimulé » dont l'importance a été mise en évidence pour la première fois par Guillemet [2].

2° Le rapport alcool formé/sucre disparu augmente graduellement pendant la fermentation, la quantité de « sucre dissimulé » étant plus grande au cours de l'expérience qu'en fin d'opération. Mais ce rapport n'atteint jamais la valeur théorique déduite de l'équation de Gay-Lussac. Dans la fermentation singulière de l'inuline en présence d'eau de levure, il ne dépasse pas la moitié de sa valeur théorique.

3° Les variations de poids du résidu sec de la levure sont presque du même ordre pour les divers glucides que nous avons étudiés. Le poids maximum de la levure est atteint au bout d'un certain temps, lequel est variable avec l'aptitude du sucre à fermenter et d'autant plus long que le glucide considéré fermente plus lentement.

La perte de poids ultérieure de la levure s'accentue avec la durée de la fermentation, mais elle reste inférieure à ce que la diminution du nombre des cellules permettait de prévoir en raison de la réassimilation de l'azote libéré par les cellules restantes ou de la conjugaison des cellules entre elles.

Lorsque le sucre mis en expérience ne fermente pas, on ne constate aucune augmentation du poids du résidu sec de la levure.

4° La mesure du sucre disparu ne permet en aucune manière de préjuger de la quantité des produits finaux formés : c'est-à-dire que le seul dosage du sucre est totalement insuffisant pour suivre une fermentation alcoolique. Du sucre restant on ne peut déduire les quantités réelles d'alcool et de gaz carbonique qui ont pris naissance et *cela est d'autant plus vrai que ce sucre fermente plus difficilement.*

5° Le sort du « sucre dissimulé » n'est point encore élucidé. Il n'est pas vraisemblable qu'en cours de fermentation il soit utilisé par la levure pour la confection de matériaux de réserve. L'accumulation dans la levure en cours de fermentation n'a lieu qu'en raison du mécanisme de la dégradation glucidique, mais en fin d'expérience les substances nouvelles semblent se trouver en majeure partie dans le milieu fermenté sous forme de produits intermédiaires ou secondaires de la fermentation alcoolique.

En somme de tous les travaux récents tant pratiques que théoriques sur la fermentation alcoolique, le seul fait certain est qu'il s'agit d'un phénomène extrêmement complexe dont la connaissance est encore loin d'être atteinte. Et nous convenons, avec Genevois [3] que les faits que nous venons de mettre en évidence posent, une fois de plus, davantage de problèmes qu'ils n'en résolvent.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

1. M. Schoen. — Faits nouveaux et nouvelles hypothèses dans la chimie des fermentations. *Annales des fermentations*, 1938, **4**, 193-219, 257-283, etc.

2. R. Guillemet. — *Contribution à l'étude de la fermentation alcoolique. La fermentation panaire.* Thèse de Doctorat ès-Sciences physiques, Strasbourg, 1936.

3. L. Genevois. — L'attaque des disaccharides par les levures. *Annales des fermentations*, 1937, **3**, 600-615.

4. M. Nicloux. — Recherches sur l'alcool éthylique. I. Microdosage. II. Combustion dans l'organisme : *a*) de l'homéotherme de petite taille ; *b*) du poecilotherme à différentes températures. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, **13**, 857-918.

5. F. Pregl. — *La microanalyse organique quantitative.* Traduction d'après la 2e édition allemande par G. Welter. Préface du Professeur Maurice Nicloux. 1 vol. Les Presses universitaires, éditeurs, Paris, 1923.

6. R. Guillemet. — Appareil pour le microdosage des groupes éthoxyle, méthoxyle, et de la glycérine. *Bull. Soc. Chim.*, 1932, **51**, 1547-1551.

7. Chr. Dumazert. — Sur le microdosage des aldoses. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1934, **16**, 932-940.

8. G. Fontès et L. Thivolle. — Recherches expérimentales sur le microdosage des substances glucidiques réductrices du sang. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, **9**, 353-445.

9. M. Polonovski, H. Warembourg et R, Merville. — Glycolyse et indice chromique. *C. R. Soc. biol.*, 1932, **3**, 24. — M. Polonovski, H. Warembourg et P. Lamour. — Modifications de la teneur du sang en glycérol au cours de la glycolyse in vitro. *C. R. Soc. biol.*, 1935, **120**, 191.

10. M. Nicloux. — Microdosage du carbone. Application à la détermination du carbone urinaire. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, **9**, 639-677.

11. Von Euler et ses collaborateurs. —*Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1919, **105**, 187 ; 1919, **108**, 165 ; 1924, **140**, 146 ; 1924, **141**, 297 ; 1928, **176**, 258 ; 1928, **178**, 202, 1930, **195**, 81 ; 1931, **198**, 1 ; 1934, **223**, 189.

12. Mlle H. Borchardt et H. Pringsheim. — Sur le facteur Z de von Euler. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1934, **16**, 736-742.

13. J. Brisou et L. Genevois. — Recherches sur la présence du facteur Z dans le jus de raisin et les liquides fermentés. *C. R. Soc. biol.*, 1931, **107**, 865.

14. L. Genevois et Pavloff. — Fermentation des sucres en milieu très dilué. *Ann. Brass. et Dist.*, 1933, 321-325 et 337-341.

15. Blish et Sandstedt. — Yeast variability and its control in flour gassing power tests. *Cereal Chemistry*, 1934, **11**, 368.

16. L. Genevois et Pavloff. — Recherches sur les sucres fermentescibles de la farine de froment. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1935, **17**, 991.

17. R. Guillemet. — Les glucides fermentescibles de la farine et de la pâte. *Académie d'Agriculture de France*, Procès-verbal de la séance du 10 juillet 1935.

18. R. Geoffroy. — Glucides fermentescibles des farines de froment et fermentation panaire. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1935, **17**, 1351-1371.

19. Blish et Sandstedt. — Biocatalytic activors specific for the yeast fermentation of maltose. *Journal of Biological Chemistry*, 1937, **118**, 765-780.

20. Schultz (Alfred), Atkin (Lawrence), Frey (Charles N.). — A Fermentation Test for Vitamin B_1 — *Journal of the American Chemical Society*, 1937, **59**, 948 et 2.457.

21. Oppenheimer. — Ueber Brenztraubensäure als Aktivator der alkoholischen Gärung. *Zeitschr. f. physiol. chem.*, 1914, **93**, 235-261.

22. Neuberg. — Fortgesetzte Untersuchungen über Carboxylase und andere Hefenfermente. *Biochem. Zeitschr.*, 1915, **71**, 1-103.

23. Neuberg und Schwenk. — Kofermentartige Wirkung von Salzen der a-Ketosäuren — *Biochem. Zeitschr.*, 1915, **71**, 135-143.

24. Neuberg. — Ueber eine allgemeine Beziehung der Aldehyde zur alkoholischen Gärung nebst Bemerkung über das Koferment der Hefe. *Biochem. Zeitschr.*, 1918, **88**, 145-204.

25. L. A. Underkoffer, W. K. Mc Pherson and Ellis I. Fulmer. — Alcoholic fermentation of Jerusalem artichokes — *Industrial and Engineering Chemistry*, Oct. 1937, **29**, n° 10.

26. R. Guillemet. — La fermentation catalysée de quelques fructoholosides. *C. R. Ac. Sc.*, 1935, **201**, 1517.

27. L. Thivolle. — Méthode de microdosage de l'acide phosphorique. Application au dosage du phosphore dans les tissus. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1935, **17**, 1427-1450.

28. L. Thivolle. — Microdosage molybdomanganimétrique de l'ion phosphorique libre dans les milieux biologiques complexes. *C. R. Soc. biol.*, 1938, **128**, 1208.

29. L. Thivolle. — Le dosage de l'ion phosphorique par molybdomanganimétrie. Application à la détermination du phosphore total sanguin et des différentes fractions du phosphore acidosoluble. *Bull. des Biologistes Pharmaciens*, 1938, n° 42, 372-389.

30. E. Elion. — *Recherches sur le rôle du phosphore dans la vie de la levure et dans la fermentation alcoolique.* Thèse de Doctorat ès-Sciences, Paris 1927.

TABLE DES MATIÈRES.

INTRODUCTION 11

CHAPITRE I. — **Essai de bilan de la fermentation** ... 15

A. Bilan partiel dans le cas du glucose 16

1° Mode opératoire 16

2° Technique des dosages 17

3° Résultats obtenus 18

B. Les difficultés du bilan carboné complet 21

C. Etude de l'évolution de la levure 22

D. Le cas singulier du maltose 25

CHAPITRE II. — **L'accélération de la fermentation** .. 27

A. Le facteur Z, le facteur M et la vitamine B_1 .. 27

B. Quelques essais personnels de catalyse de la fermentation du maltose 30

CHAPITRE III. — **La fermentation directe de l'inuline** 33

FERMENTATION CATALYSÉE DE FRUCTOHOLOSIDES 34

FERMENTATION DE L'INULINE EN PRÉSENCE D'EAU DE LEVURE 34

A. Mode opératoire et technique des dosages employés 34

B. Résultats obtenus 36

Partie expérimentale 36

1° Inuline en présence de levure seule 36

2° Inuline en présence de levure et d'eau de levure 37

3° Non hydrolyse de l'inuline et du saccharose par l'eau de levure 41

4° Evolution de la levure 42

5° Fermentation de l'eau de levure seule.... 43
6° Rapport CO_2 obtenu/sucre disparu dans la fermentation de l'inuline en présence d'eau de levure 45

Interprétation des résultats obtenus 48

1° Ce n'est pas une fraction déterminée de la molécule d'inuline qui fermente 48
2° Rôle de l'eau de levure dans la fermentation de l'inuline 48
3° Hypothèses sur l'action de l'eau de levure. 49

ESSAIS DE DÉTERMINATION DES SUBSTANCES SECONDAIRES OU ACCESSOIRES FORMÉES EN COURS DE FERMENTATION. 52

A. Dosage de la glycérine libre..... 52

B. Etude du phosphore dans les fermentations « catalysées » d'inuline 53

1° Mode opératoire et technique des dosages utilisés 53
2° Résultats obtenus 55

a) La migration du phosphore..... 55
b) Les différentes formes du phosphore au cours de la fermentation 57

REMARQUES ET DÉDUCTIONS PRATIQUES CONCERNANT LA FERMENTATION « CATALYSÉE » DE L'INULINE..... 60

CONCLUSIONS RELATIVES A LA FERMENTATION ALCOOLIQUE EN GÉNÉRAL 63

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE 65

Vu :
Strasbourg, le 11 juillet 1938.
Le Président du Jury,
Ch. LAPP.

Vu et approuvé :
Strasbourg, le 12 juillet 1938.
Le Doyen
de la Faculté de Pharmacie,
A. SARTORY.

Vu et permis d'imprimer :
Strasbourg, le 12 juillet 1938,
Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université,
J. DRESCH.

Imprimerie et Lithographie M. Declume, Lons-le-Saunier.